SA 10. NUEVO MÉTODO DE CONTROL DE LA COCCIDIOSIS AVIAR: PRUEBAS *IN VITRO* Y DE EFICACIA EN PISO CON POLLOS DE ENGORDE PARA LA EVALUACIÓN DE UN DESINFECTANTE A BASE DE EXTRACTOS DE CÍTRICOS EN VENEZUELA

Rita Tamasaukas[1], Héctor Ruíz[2], Wilfredo Theis[3], Vasco De Basilio[4], Jorge Herrera[2], Aixa Aguirre[1] y Noris Roa[5]

[1]Universidad Rómulo Gallegos, Laboratorio de Investigación y Prestación de Servicios en Sanidad Animal (LABIPRESAN), San Juan de los Morros, Estado Guárico, Venezzuela. Telefax 58-43-320729; e-mail rtamasa@dino.conicit.ve y 104551.315@CompuServe.com. [2]Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay, Estado Aragua, Venezuela. Telefax 58-43-458367. [3]CITRADE C.A., Caracas, Venezuela. [4]Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay, Estado Aragua, Venezuela. [5]CENIAP-FONAIAP, Instituto de Investigaciones Zootécnicas, Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

Abstract

New method for avian coccidiosis control: I: *in vitro* and II: Efficacy of a disinfectant composed by citric extracts in a floor-pen trial with broilers in Venezuela

It was evaluated efficacy of a disinfectant composed by citric extracts against avian coccidiosis, in an *in vitro* test and a floor-pen trial with broilers. It were used 288 chickens of 1 d age distributed at ramdon in 6 groups (4 replicates each one). Chickens were medicated in drink water at the doses: disinfectant (25 %) = 2 to 4 mL/ 10 L (I, II , III) and amprolium (98 %)= 2 to 4g/10 L (IV). Parasite challenge was done individually to 10 d age (I,II,III,IV y V). Stadistical analisis were development for ANOVA and median comparison test (a = .01). There were not visible at light microscopy, morphological and structural differences in oocysts that were previous treated with disinfectant, 6 hours before their inoculation to chickens. Lesion score and index among groups were: in upper intestine (V=IV=I*>III*II*>VI), middle (V=IV**>I*>II=III=VI) and caecal region (V*>III=II**>I=IV=VI), without lesions in lower intestine. It were observed highly differences in oocysts production and index in groups V***>IV**>II*>I^{ns}>III, and not among I and III. There were not differences among groups in GDP, greatest GDP were obtained in order: V, I, IV, III, II and VI (42.075 g; 39.505 g; 39.501 g; 39.380 g; 37.875 g, 37.609 g, respectively). There were not differences in feed consumption and feed convertion. General mortality was 0.69 % (2/288) and due coccidiosis was 4.16 % (2/48) in group II only. It were observed differences in anticoccidial index, being greater in I (188) and III (183) in comparison to IV (174) and II (158), also in productivity index, being greater in V>I=IV>III*>VI*>II (1.890; 1.717; 1.717; 1.690; 1.570, 1.246). The disinfectant composed by citric extracts had moderate efficacy in avian coccidiosis control, and it could be an alternative method.

Palabras claves: Coccidiosis aviar, control, desinfectante, *Eimeria* spp.
Key words: Avian coccidiosis; control; disinfectant; *Eimeria* spp.

Introducción

La Coccidiosis Aviar es una enfermedad de origen parasitario provocada por protozoarios intestinales del Género *Eimeria*, con seis especies de mayor importancia por sus efectos negativos sobre la salud de las aves y la producción de las mismas en las diferentes modalidades de producción: engorde, ponedoras, reproductores, etc., a saber: *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*, *E. mivati*, *E. brunetti* y *E. necatrix* (Ruiz, 1990; Machado, 1994; McDonald *et al*., 1985; McDougald, 1990; Reid and Long, 1979; Johnson and Reid, 1970, Tamasaukas *et al*., 1996) . Durante los últimos 50 años, la coccidiosis aviar se ha controlado mediante el uso sistemático de más de 40 drogas de diversa naturaleza, desde las sulfas en su inicio, pasando por los antibióticos inonóforos (monensina, salinomicina, semduramicina, etc.) hasta llegar a los análogos de los nucleósidos (diclazuril, toltrazuril) (Ruiz, 1990; Machado, 1994; McDonald *et al*., 1985; McDougald, 1990; Reid and Long, 1979; Johnson and Reid, 1970, Tamasaukas *et al*., 1996) y a las posibilidades de los derivados de semillas de frutas cítricas (Tamasaukas *et al*., 1996). De allí que, la investigación para la búsqueda de nuevas formas de control de esta enfermedad se mantiene vigente por ello, las posibilidades que brindan los extractos de semillas de frutas cítricas y los ácidos orgánicos, integrados por pequeños elementos químicos naturales, de reconocida actividad bactericida, fungicida y viricida (Janssen, 1988) y con eficacia moderada contra protozoarios del Género *Eimeria* (Tamasaukas *et al*., 1996) abre una puerta para el control alternativo de la coccidiosis aviar. por ello, el Akuapura de acción acidificante y

desinfectante, específicamente formulado para ser utilizado en el agua de bebida de las aves, pudiera ser una alternativa para el control integrado de la coccidiosis aviar, debido a su poder antiséptico y de allí el objetivo de este trabajo de investigación, realizado para evaluar la eficacia *in vitro* e *in vivo* de este producto de composición mixta, en pollos de engorde en una prueba en piso.

Materiales y métodos

Se utilizaron 288 pollitos (as) de 1 día de edad, de una sola raza y provenientes de la misma incubadora. El alimento se suministró *ad libitum*. Las aves se alimentaron con un alimento comercial no medicado con anticoccidial: Iniciador durante las tres primeras semanas de vida, y Engorde, las últimas tres semanas. Las aves se alojaron en corrales en piso, en el Galpón Experimental de la Sección de Avicultura de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela en Maracay, Aragua, Venezuela. Se utilizaron como inóculos de desafío, cepas de *Eimeria spp. (E. acervulina, E. tenella, E. maxima, E. brunetti, E. mivati*) aisladas de granjas comerciales de la región central de Venezuela y mantenidas en el LABIPRESAN de la URG y en el Laboratorio de Investigación de la Cátedra de Parasitología de la FCV-UCV. Se utilizó el producto Akuapura al 25 %, (compuesto de: extracto de semillas cítricas, ácido ascórbico, ácido palmítico, prótidos, carbohidratos, tocoferoles, ácido cítrico, ácido láctico y glicerina) desde el día 1 de edad de las aves, en el agua de bebida, a una dosis de 2ml por cada 10 litros antes del desafío parasitario (Pre-D) y a 4 ml por cada 10 litros durante el post-desafío (Post-D) hasta el final del ensayo; como droga comparativa se utilizó el amprolium al 98% a una dosis de 2 g por cada 10 litros de agua de bebida Pre-D y de 4 g por cada 10 litros de agua durante el Post-D hasta el final del ensayo (Prueba de Eficacia).

Los parásitos provinieron de cepas de *Eimeria spp.* mantenidas en el laboratorio; los oocystos esporulados en dicromato de potasio al 2.5 % debidamente contados y mantenidos en refrigeración hasta su utilización. Se utilizaron tres tipos de inóculos: uno con 5.000 oocystos esporulados de *E. tenella* tratados con el producto por 6 horas, antes de la inoculación del reto parasitario (I); otro con 45.000 oocystos esporulados de un pool de *E. acervulina, E. maxima, E. mivati* y *E. brunetti* tratados con el producto por 6 horas, Pre-D (II) y uno con 50.000 oocystos de un pool de *E. acervulina, E. maxima, E.mivati, E. brunetti* + *E.tenella* (45.000 + 5.000, respectivamente), sin tratar (III, IV y V). La inoculación fue vía oral a cada ave individualmente, con una cánula esofágica (I, II, III, IV y V) al día 10 de edad. Hubo un período de retiro de las drogas de 5 días antes de llevar a matadero a las aves.

Las 300 aves se distribuyeron al azar en los seis grupos experimentales (12 aves/grupo, con 4 réplicas por grupo) (12 x 6 x 4 = 288); las restantes fueron utilizadas como reemplazo, por si ocurrieran muertes antes del proceso del reto parasitario, y se mantuvieron en las mismas condiciones de alojamiento, alimentación y manejo que las aves experimentales (1 grupo con Akuapura desde el primer día de edad y 1 grupo sin ninguna droga). El ensayo duró seis semanas en total, realizándose el reto parasitario al día 10 de edad de las aves.

Parámetros a evaluar. 1. En los oocystos previamente tratados con el Akuapura por 6 horas, Pre-D a las aves de los grupos I, II y III, se evaluaron las condiciones de los oocystos a inocular (morfología, morfometría, aspecto, estructuras, etc.,) y determinar si hubo algún efecto visible del producto sobre los oocystos. 2. Producción de Oocystos: Desde el día 0 Post-D hasta el final del ensayo se tomaron las heces diariamente y se procesaron por la técnica modificada de McMaster, calculándose el Índice de Producción de Oocystos (Ruiz, 1990; Tamasaukas *et al*., 1996; Ruíz *et al*., 1992). 3. Score de lesiones: Se efectuó a todas las aves que murieron durante el ensayo y a dos aves por réplica de cada grupo experimental al sexto día Post-D utilizando la técnica de Johnson y Reid (Johnson and Reid, 1970), así como a un ave de cada grupo al día 42 del ensayo, calculando el promedio e índice de lesiones (Tamasaukas *et al*., 1996; Ruíz *et al*., 1992). 4. Mortalidad: Se registró la mortalidad diaria de cada grupo, calculándose el porcentaje de mortalidad y de supervivencia de cada grupo (Tamasaukas *et al*., 1996; Ruíz *et al*., 1992). Las aves fallecidas Pre-D fueron sustituidas por otras del reemplazo, mantenidas en iguales condiciones a cada grupo, Post-D no se reemplazó ninguna y las muertes ocurridas fueron consideradas dentro del cálculo de mortalidad, realizando la necropsia de las mismas y el score de lesiones para determinar la causa de muerte. 5. Ganancia de Peso (GP): Se tomaron pesos de las aves al inicio del ensayo y semanales hasta su finalización, calculándose la GP diaria, semanal y final (Tamasaukas *et al*., 1996; Ruíz *et al*., 1992). 6. Consumo de Alimento: Se determinó diariamente por diferencia entre el peso de la cantidad suministrada y el pesaje del resíduo (consumo = ofrecido - resíduo). (Tamasaukas *et al*., 1996). 7. Conversión Alimenticia: Se calculó en función de los valores promedios del peso final obtenido y el consumo de alimento total en cada grupo (Tamasaukas *et al*., 1996). 8. Índice Anticoccidial: Se calculó en base al procedimiento modificado de Cuckler (Tamasaukas *et al*., 1996). 9. Índice de Productividad: Se determinó por el procedimiento de Citrex y Tamasaukas *et al.* (1996), el cual analiza las repercusiones del producto sobre los parámetros bioproductivos de las aves. 10. Exámenes Histopatológicos**:** en las aves que se sacrificaron para el score de lesiones (al día 6 Post-D) se tomaron muestras de cada segmento intestinal (duodeno, intestino medio y ciego, y de los estómagos glandular y muscular), así como a un ave de cada

grupo (al finalizar el ensayo), se fijaron en formalina al 10 % y se procesaron en el laboratorio por la Técnica de Coloración de Hematoxilina-Eosina, a fin de evaluar la arquitectura histopatológica de estos segmentos gastro-intestinales. Análisis estadístico: Se aplicó el ANAVAR y la prueba de comparación de medias por el método de la mínima diferencia significativa (a = .01) (Tamasaukas *et al*., 1996; Ruíz *et al*., 1992; Janssen, 1988).

Resultados y discusión

Luego de las 6 horas de tratamiento de los oocystos con el producto, los mismos no presentaron al microscopio de luz, ningún cambio morfológico, morfométrico ni estructural diferente a los oocystos no tratados, lo cual indica que aquel aparentemente no tuvo efecto sobre los oocystos. Aunque las referencias indican que los derivados de semillas de cítricas por ser macromoléculas se les dificultaría penetrar la pared de los oocystos, pero por su eficacia desinfectante, similar a la del fenol, y por la acidez que provoca, pudiera tener algún efecto sobre los oocystos y quizás solo observable a nivel ultraestructural. La histopatología arrojó resultados compatibles con una infección coccidial leve (I y II) y moderada (en IV y V) y ninguna alteración (III y VI). La producción total promedio de oocystos por ave (opg/ave) determinó diferencias altamente significativas entre los grupos (V*** > IV** > II* > I^{ns} > III) (P > .01), y no hubo diferencias estadísticas entre los grupos I y III. En cuanto a la distribución promedio del grado de lesiones al día 6 Post-D se determinaron diferencias significativas entre los grupos en duodeno (V = IV = I* >III* > II* >VI), yeyuno (V = IV** > I* > II = III = VI) y ciego (V* > III = II** > I = IV = VI) (P > .01). No habiendo lesiones en íleon en ningún grupo; con un grado promedio +1 en todas las aves con lesiones intestinales. Al 42 d de edad se realizó un score de lesiones a un ave de cada grupo evaluando el comportamiento de la infección coccidial, arrojando resultados altamente satisfactorios al no haber lesiones en la totalidad de las aves tratadas necropsiadas, a excepción del grupo V en el cual el promedio del grado de lesiones fue de 0.25 en duodeno, yeyuno y ciego. En referencia a la GP OUT (día 42) no hubo diferencias significativas; al respecto se infiere que posiblemente sea debido a que como el ensayo fue un completamente aleatorizado, las aves fueron asignadas a cada grupo al azar, por lo que mas aves de mayor peso quedaron repartidas en las réplicas del grupo V. La GDP en todos los grupos experimentales, no detectó diferencias estadísticas significativas entre ellos (cuadro 1). El porcentaje de mortalidad general absoluta fue del 0.69 % (2/288), siendo atribuible a signos de coccidiosis en un 4.16 % (2/48) en el grupo II. No se observaron diferencias estadísticas significativas en consumo de alimento ni conversión alimenticia (cuadro 1). En cuanto a los Indices anticoccidiales (I.A.) hubo diferencias estadísticas significativas (P > .01), siendo mayor en I (188) y III (183) en comparación a IV (174) y II (158). Indicándose que estos índices obtenidos fueron buenos para I y III; moderado para IV y pobre para II, en base a la clasificación de este parámetro expresada por Janssen (Steel and Torrie, 1980), quien indica que la eficacia anticoccidial de un producto es buena cuando el IA es igual o superior a 180, es moderada cuando el IA oscila entre 160 y 180 y es pobre cuando es inferior a 160. En el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos en cada grupo sobre el cálculo del índice de productividad; observándose diferencias estadísticas significativas (P > .01), siendo mayores en V > I = IV > III* > VI* > II.

Cuadro 1. Indice de Productividad, Ensayo Akuapura, 1996.

Tratamiento	GDP (g)	Viabilidad	Conversión alimenticia	Indice productividad
I (AKI)	39.505	1.0	2.30	1.717
II (AKII)	37.875	0.8	2.43	1.246
III (AKIII)	39.380	1.0	2.33	1.690
IV (AMP)	39.501	1.0	2.30	1.717
V (+)	42.075	1.0	2.22	1.890
VI (-)	37.609	1.0	2.39	1.570

Conclusiones

El desinfectante probado a pesar de no ser considerado un producto anticoccidial *per se* mostró tener cierto grado de actividad contra las coccidias del Género *Eimeria* en este ensayo, al considerar los resultados obtenidos en cuanto a score de lesiones y producción de oocystos, así como la presencia de signos leves de coccidiosis (grupos I y II) o ninguno (grupo III) en comparación con el grupo control positivo (infectado no tratado) y el grupo IV (infectado tratado con amprolium) que manifestaron signos moderados de coccidiosis (diarrea y sangre en las heces, así como una baja en la ganancia de peso durante la fase aguda de la infección). El Akuapura a pesar de haber sido suministrado diariamente por un período de tiempo de 42 días consecutivos, no mostró ser tóxico, ya que no alteró el desarrollo de las aves, así como tampoco hubo lesiones histopatológicas en el tracto gastrointes-

tinal de las aves tratadas con este producto. Aunque en los parámetros bioproductivos directos (GP, consumo de alimento y conversión alimenticia), no hubo diferencias estadísticas significativas, en los indirectos (índices anticoccidiales y de productividad) si se demostraron; por otra parte, en los parámetros parasitológicos sí se presentaron altas y moderadas diferencias significativas, por lo cual se concluye que el Akuapura, tuvo efectividad anticoccidial comprobada, bajo las condiciones de este ensayo, por lo que pudiera ser una alternativa en el control de la coccidiosis al ser suministrado en el agua de bebida, en conjunto con otro método de control.

Literatura citada

Ruíz, H. 1990. Coccidiosis aviar. 1a. ed. (UCV-CDCH eds.). Caracas, Venezuela.: 162 pp.

Machado de Castro, A. G. 1994. Situação atual da coccidiose no Brasil. Importancia econômica. In: Simpósio Internacional sobre Coccidiose. (22-23 Maio, 1994; Santos - SP, Brasil): 45-54.

McDonald, L., L. P. Joyner and P. L. Long. 1985. Research in avian coccidiosis. Procc. Georgia Cocc. Conference (Georgia, USA, 1985).

McDougald, L. 1990. Adelantos en drogas anticoccidiales e inmunización para el control de la coccidiosis aviar. Avicultura Profesional. 8 (1): 9-11.

Reid, W. M. and P. L. Long. 1979. A diagnostic chart for nine species of fowl coccidia. University of Georgia College of Agriculture Experiment Stations. Research Report. 335: 23 pp.

Johnson, J. and W. M. Reid. 1970. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. Exp. Parasitol. 28: 30-36.

Tamasaukas, R., H. Ruíz y W. Theis. 1996. Evaluación de la eficacia del Salstop y Digestor Broilers ® (Citrade C.A.): productos derivados de extractos de semillas de frutas cítricas contra la coccidiosis aviar, prueba en piso. Revista Parasitología al Día. Vol. 20. Nos. 3-4. :118-124.

Citrex. s/a. Tecnología del futuro en manos del productor de hoy: productos y programas diseñados para incrementar su beneficio. Manual Técnico. (Mimeo).

Visna. s/a. Kilol-mix: información técnica. (Mimeo.). 3 pp.

Ruíz, H., R. Tamasaukas, A. Plaza y F. Quero. 1992. Evaluación de la eficacia del diclazuril (Clinacox®, en ensayos de batería en Venezuela. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela. Volumen 38, Nos. 1-2, Años 1991-1992.: 19-31.

Steel, R. G. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. Mc Graw-Hill Book Com. New York, USA.

Janssen. 1988. Clinacox: technical manual. Janssen Pharmaceutica. Animal Health. 48 pp.